

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

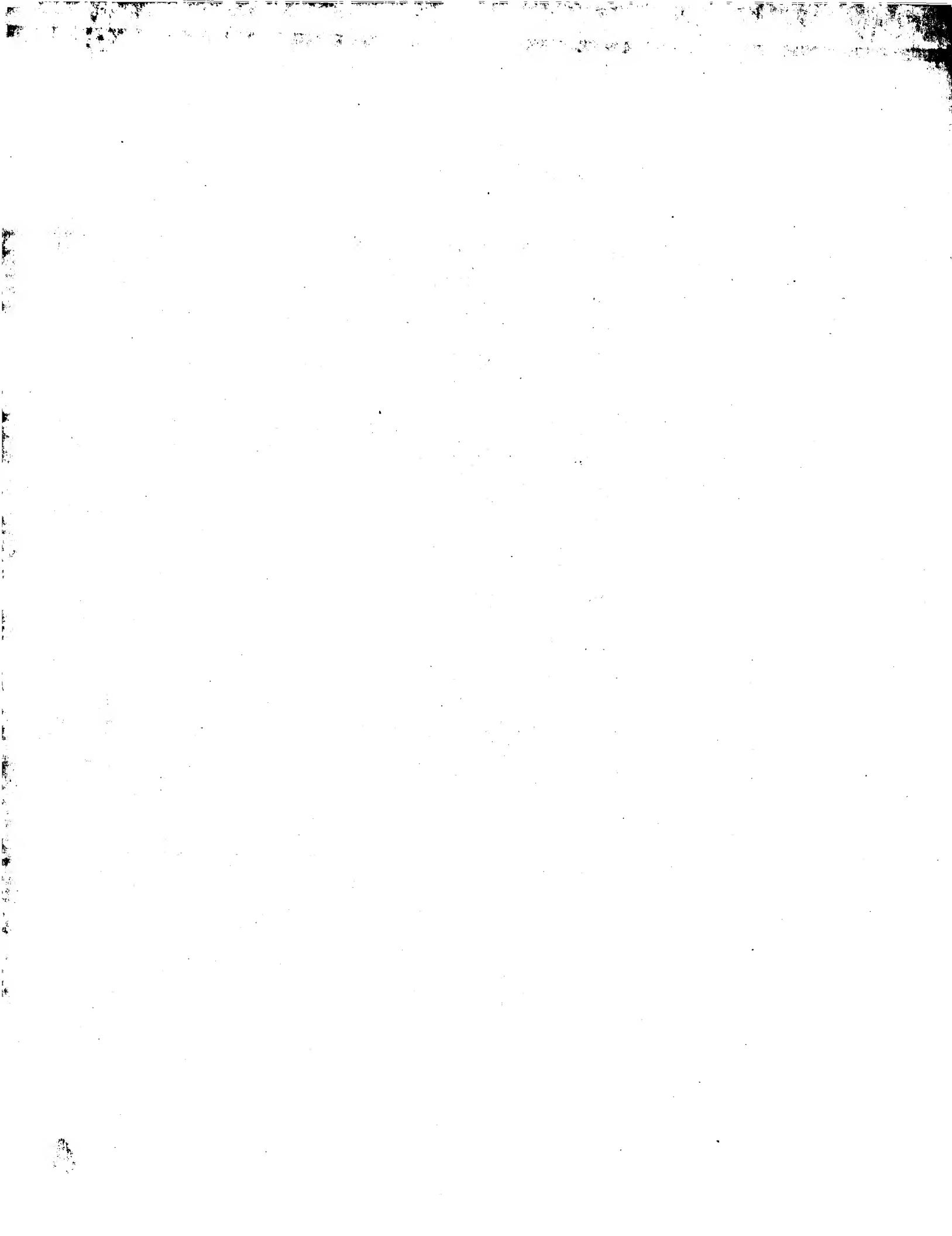
Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.

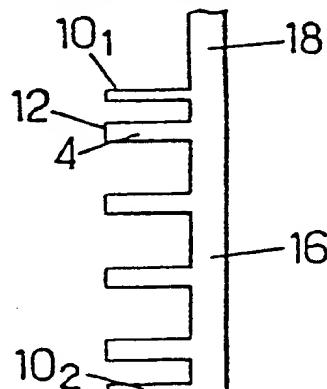


DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIEE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ³ : G01N 33/48, 33/54		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 83/ 03677 (43) Date de publication internationale: 27 octobre 1983 (27.10.83)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/CH83/00046 (22) Date de dépôt international: 15 avril 1983 (15.04.83) (31) Numéro de la demande prioritaire: 2305/82-7 (32) Date de priorité: 16 avril 1982 (16.04.82) (33) Pays de priorité: CH		(81) Etats désignés: AT (brevet européen), BE (brevet européen), CH (brevet européen), DE (brevet européen), FR (brevet européen), GB (brevet européen), JP, LU (brevet européen), NL (brevet européen), SE (brevet européen), US. Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>	
(71) Déposant (<i>pour tous les Etats désignés sauf US</i>): GENE-FUSION S.A. [CH/CH]; Sogedes S.A., 19, rue de la Croix d'Or, CH-1204 Genève (CH). (72) Inventeur; et (75) Inventeur/Déposant (<i>US seulement</i>): BOQUET, Patrice [FR/CH]; Sogedes S.A., 19, rue de la Croix d'Or, CH-1204 Genève (CH). (74) Mandataire: MEYER, Hans; 15, rue Viollier, Ch-1207 Genève (CH).			

(54) Title: ANALYSIS DEVICE FOR BIOLOGICAL SYMBOLS

(54) Titre: DISPOSITIF D'ANALYSE POUR ECHANTILLONS BIOLOGIQUES



(57) Abstract

A system allows to carry out simultaneous analysis and detections of a factor in a plurality of biological samples. It is characterized by the combination on one hand of a plate comprising a set of cavities distributed in a plurality of distinct series and rows, said plate being made of a material having no adsorption capacity for the factor to be tested for and, on the other hand, of a comb comprising teeth (4) of which the spacings allow to insert them simultaneously in as many cavities of the plate, the teeth of said comb being themselves made of a material retaining or capable of retaining, particularly by absorption or adsorption, either the factor or the reactant for detecting said vector.

(57) Abrégé

Système permettant des analyses et des détections simultanées d'un facteur, dans une pluralité d'échantillons biologiques. Il est caractérisé par la combinaison, d'une part, d'une plaque comprenant un ensemble de cavités réparties en plusieurs séries et rangées distinctes, ladite plaque étant formée d'un matériau ne présentant pas de capacité d'adsorption à l'égard du facteur à détecter et, d'autre part, d'un peigne comprenant des dents (4) dont les écartements leur permettent d'être introduites simultanément dans autant de cavités de la plaque, les dents dudit peigne étant elles-mêmes formées d'un matériau retenant ou apte à retenir, notamment par absorption ou adsorption, soit le facteur, soit le réactif de détection du dit vecteur.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publient des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	LI	Liechtenstein
AU	Australie	LK	Sri Lanka
BE	Belgique	LU	Luxembourg
BR	Brésil	MC	Monaco
CF	République Centrafricaine	MG	Madagascar
CG	Congo	MR	Mauritanie
CH	Suisse	MW	Malawi
CM	Cameroun	NL	Pays-Bas
DE	Allemagne, République fédérale d'	NO	Norvège
DK	Danemark	RO	Roumanie
FI	Finlande	SE	Suède
FR	France	SN	Sénégal
GA	Gabon	SU	Union soviétique
GB	Royaume-Uni	TD	Tchad
HU	Hongrie	TG	Togo
JP	Japon	US	Etats-Unis d'Amérique
KP	République populaire démocratique de Corée		

- 1 -

Dispositif d'analyse pour échantillons biologiques

L'invention concerne un système permettant des analyses et des détections simultanées d'un facteur, par exemple d'un antigène ou d'un anticorps, dans une pluralité d'échantillons biologiques. Plus particulièrement, elle met en oeuvre des plaques comprenant un ensemble de cavités propres à recevoir les échantillons à doser ainsi que les réactifs utiles à la détection.

On a déjà proposé des systèmes mettant en jeu de telles plaques, plus particulièrement des plaques contenant par avance les réactifs nécessaires à la réaction, par exemple l'anticorps correspondant à l'antigène recherché dans les échantillons à doser. Il a en particulier été suggéré d'utiliser des plaques formées d'une matière plastique, caractérisée par une capacité d'adsorption ou d'absorption de protéines, par exemple d'un anticorps, les plaques étant alors livrées aux utilisateurs déjà munis par avance des réactifs nécessaires aux dosages, par exemple des anticorps, dans certaines de leurs cavités. L'utilisateur peut alors introduire dans les cavités correspondantes l'échantillon à étudier, le cas échéant dilué dans un tampon approprié. Il est également connu que la réalisation d'un dosage peut impliquer une série d'opérations successives, pouvant faire intervenir des transferts successifs du milieu de réaction d'une cavité à l'autre, soit sur la même plaque, soit sur des plaques différentes, notamment par des opérations de pipetage.

Bien que de telles opérations aient déjà été automatisées, elles peuvent rester d'une mise en oeuvre assez complexe. Par ailleurs, il peut se produire que la présence de certains



réactifs, introduits initialement dans le milieu à transférer en vue de la réalisation d'une première réaction utile, devienne une cause de perturbation des réactions postérieures à opérer sur l'échantillon biologique au cours d'une étape postérieure du dosage.

L'invention a pour but de remédier à ces difficultés, plus particulièrement de fournir un système qui, tout en permettant des détections simultanées d'un facteur, voire même de plusieurs facteurs dans une pluralité d'échantillons biologiques, soit néanmoins d'une manipulation extrêmement simple. En outre, elle a pour but, dans le cas de dosages comprenant une série d'opérations devant être réalisées dans des cavités distinctes d'obvier aux difficultés pouvant résulter des transferts obligés, d'une cavité à l'autre, de certains des réactifs utilisés dans les premières cavités, avec la totalité de l'échantillon transféré ensuite dans les cavités suivantes, en vue de la réalisation des étapes postérieures du dosage.

Le système selon l'invention est caractérisé par la combinaison, d'une part, d'une plaque comprenant un ensemble de cavités réparties en plusieurs séries distinctes, comportant respectivement des nombres égaux de cavités, et formant autant de rangées de tubes en correspondance mutuelle, la dite plaque étant formée d'un matériau ne présentant pas de capacité d'adsorption ou d'absorption, tant à l'égard du facteur à détecter que des réactifs nécessaires à sa détection et, d'autre part, d'un peigne comprenant des dents dont les écartements leur permettent d'être introduites simultanément dans les cavités de chacune des susdites rangées, ou d'en être retirées simultanément, les dents dudit peigne étant elles-mêmes formées d'un matériau retenant ou apte à retenir, notamment par absorption ou adsorption, soit le facteur, soit le réactif de détection dudit facteur, soit les deux à la fois.

Il va de soi que la plaque susdite pourra être constituée de toute façon en soi connue pour ce qui est de sa structure, que les nombres respectifs de séries et de rangées de cavités peuvent varier d'une plaque à l'autre, notamment selon la nature des



- 3 -

dosages envisagés; que ces cavités peuvent être de toutes formes, semi-sphériques, coniques, tubulaires, etc.

Le caractère non adsorbant ou absorbant de la matière dont sont constituées les parois des cavités permet l'extraction éventuelle à partir du milieu contenu dans ces cavités de l'un des principes qu'il contient, plus particulièrement soit du facteur à doser, soit du réactif caractéristique de ce facteur, soit du réactif sur lequel est venu se fixer le facteur, par exemple lorsque le facteur à doser est constitué d'un antigène et que le réactif spécifique est constitué par un anticorps.

En particulier, cette extraction à partir du milieu de culture peut être effectuée par les dents du peigne, si celles-ci sont constituées en un matériau apte à retenir soit le facteur, soit le réactif, soit les deux à la fois, selon les besoins du dosage.

Avantageusement, les matériaux en question sont constitués par des matières plastiques bien connues par le spécialiste.

Pour constituer le matériau des parois des cavités de la plaque, on peut avoir recours à des matières plastiques telles que le polystyrène ou le PVC non absorbants et lisses.

Au titre des matières plastiques susceptibles d'être utilisées pour former les dents du peigne, on pourra avoir recours à des matières semblables, cependant prétraitées avec des composés oléagineux ou tensio-actifs, disponibles dans le commerce.

Il est entendu que l'expression "peigne" recouvre tout système comprenant une pluralité de dents ou tiges, maintenues écartées entre elles par tous moyens appropriés, le plus simple étant constitué par un support commun, dont elles sont définitivement ou temporairement solidaires, de façon à pouvoir être introduites simultanément.

ment, à l'occasion d'un mouvement de ces moyens en direction de la plaque, dans une pluralité de cavités, de préférence d'une même rangée. Il va de soi que l'on pourrait aussi concevoir un système équivalent permettant les introductions simultanées des dents du peigne dans des cavités appartenant à des rangées distinctes de la plaque. Il en résultera naturellement un système de fonctionnement équivalent, permettant à chaque dent de passer d'une cavité à l'autre, à l'occasion des mouvements de retrait, de translation vis-à-vis de la plaque, et de réintroduction des dents du peigne dans des cavités distinctes de la plaque, et ayant des dispositions relatives semblables.

Si l'on considère maintenant que le peigne peut être déplacé d'une rangée à l'autre des cavités de la plaque, on conçoit qu'il permet la réalisation simultanée d'autant de dosages que la plaque comporte de cavités dans une même rangée et/ou le peigne de dents. Dans la mesure où le peigne présente des qualités d'absorption ou d'adsorption à l'égard, par exemple, de l'anticorps utilisé à titre de réactif, le peigne permettra le transfert de l'anticorps éventuellement présent dans les cavités de la première rangée, après modification ou non par l'antigène, de ces cavités à celles de la seconde rangée, puis de celle-ci vers la troisième, etc., et ce le nombre de fois nécessaire à l'accomplissement de la totalité des dosages requis par la détection, comme cela sera illustré à titre d'exemple ci-après, en ce qui concerne la détection de la présence de toxine cholérique prise à titre d'exemple, dans un liquide biologique.

Il va sans dire que si l'on a dans ce qui précède envisagé le cas des détections simultanées d'un même facteur dans une pluralité d'échantillons biologiques, à l'aide d'un réactif, l'invention s'appliquerait de la même façon aux détections simultanées de plusieurs facteurs distincts éventuellement contenus dans des fractions d'un liquide biologique provenant du même échantillon, les réactifs utilisés étant alors adaptés à chaque facteur particulier recherché. Bien entendu cette variante n'est qu'un équivalent de la précédente et de ce fait entre dans le

BUREAU
OMPI
WIPO

- 5 -

cadre des revendications attachées à cette demande.

Un système conforme à un mode de réalisation préféré de l'invention est caractérisé par des rangées, cavités ou groupes consécutifs de rangées de cavités 5 présentant des sections de dimensions réduites alternant avec des rangées ou groupes consécutifs de rangées dont les cavités présentent des sections plus allongées, notamment dans les directions des séries auxquelles elles appartiennent, ces sections plus allongées autorisant des 10 déplacements relatifs limités dans les mêmes directions des dents du peigne, lorsque celles-ci y ont été introduites. Ces rangées de cavités de sections distinctes seront respectivement désignées ci-après sous les désignations de rangées "de premier type" ou de rangées "de 15 deuxième type", ou encore "premières rangées" et "secondes rangées".

La disposition préférée qui précède permet, lorsqu'il en est besoin, soit de maintenir les dents du peigne dans une position bien déterminée vis-à-vis du 20 volume intérieur des cavités déjà en question, notamment lorsque l'on ne recherche pas d'effet d'agitation et que l'on doit éviter le heurt des dents du peigne avec les parois. A l'inverse, les dimensions allongées des autres cavités autorisent un certain niveau d'agitation du 25 liquide contenu dans ces cavités, par l'intermédiaire des dents du peigne ou éventuellement facilite le rinçage des produits mal ou insuffisamment fixés, entraînés par les dents du peigne lors du retrait de la rangée de cavités antérieures. On appréciera là encore que l'on 30 dispose d'un grand choix de possibilités de dimensionnement des différentes cavités, de sorte qu'à chaque type de dosage pourra répondre un type de plaque déterminé. Il va de soi que les directions correspondant aux dimensions les plus importantes des sections des cavités allongées peuvent être quelconques, par exemple perpendiculaires aux directions des séries en cause. Toutes ces 35 variantes sont naturellement des équivalents des modes de réalisation plus particulièrement revendiqués et à

- 6 -

ce titre entrent dans le cadre de l'invention protégée. De même les plaques des systèmes selon l'invention pourraient encore comporter des rangées de cavités ayant des sections distinctes de celle des rangées "de premier 5 type" ou "de second type", etc..

Pour assurer la mise en place correcte des dents du peigne dans les cavités de chacune des rangées, tout en évitant d'éventuels contacts des dents du peigne avec les parois de ces cavités, la plaque est avantageusement 10 pourvue de moyens de guidage coagissant avec des organes guidés portés par le peigne, pour assurer la mise en place, le maintien en position (et le cas échéant des mouvements limités des dents du peigne) et le retrait de ces dents hors des cavités en cause.

15 Les mouvements d'introduction des dents du peigne dans les cavités successives peuvent être réalisés manuellement. Bien entendu, le système peut également être automatisé, le peigne pouvant notamment être associé avec un dispositif en soi connu permettant 20 de commander les mouvements successifs du peigne, notamment les introductions successives des dents dans des rangées distinctes de la plaque, les maintiens en position dans les cavités de chaque rangée (ou les

- 7 -

mouvements limités des dents du -----
peigne à l'intérieur desdites cavités), puis les opéra-
tions de retrait, selon un programme prédéterminé. On
peut avoir recours à cet effet aux moyens disponibles
5 dans l'état de la technique.

Des caractéristiques supplémentaires de l'inven-
tion apparaîtront encore au cours de la description,
donnée à titre simplement indicatif, d'une construction
préférée du système selon l'invention, ainsi que d'un
10 exemple de mise en oeuvre de cette construction, pour
réaliser, là encore seulement à titre d'exemple, des
detections simultanées d'un antigène déterminé, ici
la toxine cholérique, dans une pluralité d'échantillons
biologiques présumés pouvoir la contenir. Cette des-
cription sera faite en faisant également référence aux
15 dessins dans lesquels :

- la fig. 1 est un schéma d'une plaque vue en perspec-
tive,
- la fig. 2 est une coupe à travers un mode de réalisa-
tion particulier du peigne,
- les fig. 3a, 3b, 3c illustrent des formes avantageuse-
ment conférées aux extrémités de chacune des dents du
peigne.

La plaque de la fig. 1 comprend un ensemble de
25 quatre séries S1, S2, S3, S4 de cavités 2a, 2b : treize
cavités par série dans l'exemple considéré. Il en dé-
coule que la plaque comprend également, dans l'exemple
considéré, treize rangées de cavités. Comme indiqué
plus haut, cette plaque, en tous cas les parois et les
30 cavités, sont constituées d'un matériau, notamment d'une
matière plastique ne présentant pas de capacité d'absor-
ption ou d'adsorption, tant à l'égard du facteur à détec-
ter que des réactifs nécessaires à sa détection.

La fig. 2 montre schématiquement le peigne
35 associé à la plaque dans le système selon l'invention,
ce peigne comprenant quatre dents 4 présentant des écar-
tements semblables à ceux des cavités dans chacune des
rangées, de sorte qu'elles peuvent être introduites si-

- 8 -

multanément dans les cavités 2a ou 2b, y être maintenues et en être retirées simultanément, les dents du peigne étant, comme il a été indiqué plus haut, constituées d'un matériau, notamment d'une matière plastique, retenant, ou 5 apte à retenir, de préférence par absorption ou adsorption, soit le facteur, soit le réactif de détection dudit facteur.

Dans le cas représenté, les cavités 2a sont circulaires et les cavités 2b présentent une section allongée dans la direction longitudinale de séries, ces sections plus allongées autorisant des déplacements relatifs limités dans les mêmes directions des dents 4 du peigne, lorsque celles-ci y ont été introduites.

Avantageusement, la plaque et le peigne sont 15 pourvus de moyens de guidage mutuels permettant la mise en place aisée du peigne vis-à-vis des cavités de chaque rangée, chaque fois qu'il est amené en regard des cavités de cette même rangée, notamment à la verticale. En particulier, les moyens de guidage portés par la plaque sont 20 constitués de deux types d'encoches 6a, 6b, formées par les côtés latéraux 8 de la plaque, de part et d'autre desdites séries, ces encoches du premier type (6a) et du second type (6b) étant en correspondance avec les rangées formées de cavités à section circulaire (2a) et les secondes rangées de cavités à section allongée (6b). Les organes guidés portés par le peigne sont constitués de tiges ou dents complémentaires 10₁, 10₂, de préférence de part et d'autre des dents (4) et aptes à coagir avec les encoches, à l'occasion du mouvement d'introduction des 30 dents (4) dans les rangées successives de cavités. Avantageusement, les tiges ont une section sensiblement complémentaire des encoches 6a du premier type, de sorte que l'engagement desdites tiges dans ces encoches, à l'occasion de l'introduction des dents du peigne dans des 35 cavités du type 2a, assure le guidage desdites dents dans une direction bien déterminée, notamment selon l'axe des cavités 2a. Les encoches du type 6b, en corres-

BUREAU
OMPI
WIPO

pondance avec les secondes rangées, présentent une largeur plus grande, dont les bords 6b₁, 6b₂ définissent des butées, coagissant avec les tiges 10₁, 10₂, pour limiter les déplacements relatifs limités alors 5 autorisés des dents du peigne, lorsque celles-ci sont ou ont été introduites dans les cavités de la rangée correspondante de la plaque.

Il est avantageux que les dents du peigne présentent à leurs extrémités 12 des parties renflées ou 10 présentant des sections plus importantes que la zone intermédiaire 14 des dents, entre lesdites extrémités 12 et le support 16 desdites dents, support qui comporte éventuellement une partie 18 permettant sa liaison à un appareil desmisesen position et des mouvements du peigne 15 vis-à-vis de la plaque. On peut conférer aux extrémités 12 des formes quelconques, telles que représentées par exemple aux fig. 3a, 3b et 3c, étant entendu que ces formes (palettes ou ailerons) ont en commun la capacité d'éviter les remontées par capillarité du liquide éven- 20 tuellement contenu dans les cavités dans lesquelles elles pénètrent, le long des parties intermédiaires 14 plus étroites desdites dents, vers le support.

Ce système peut alors être mis en oeuvre pour effectuer des dosages du type de celui qui va être exposé 25 ci-après à titre d'exemple.

EXEMPLE DE MISE EN EVIDENCE D'UN ANTIGENE AVEC LE SYSTEME SELON L'INVENTION.

On souhaite rechercher la présence detoxine cholérique dans un liquide biologique (élément A). On utilise dans cet exemple une plaque et un peigne présentant les caractéristiques suivantes : 30

- 1°) plaque de plastique comportant des cavités
- 2°) peigne de plastique en plastique spécial (en
.....,.....).

35 La plaque de plastique non adsorbant comporte au minimum trois rangées de treize trous de sections respectivement circulaires et allongées selon la modulation



- 10 -

montrée dans la fig. 1.

La séquence est toujours la suivante :

Une cavité où s'effectue une réaction, suivie de trois cavités plus grandes où s'effectuent les lavages.

Le peigne est en plastique spécialement traité, notamment en pour adsorber les protéines.

On dispose :

- 10 - d'anticorps de type lapin dirigés contre la toxine cholérique (élément B) ;
- d'anticorps de type lapin dirigés contre la toxine cholérique, sur lesquels on a fixé de façon covalente une enzyme, par exemple la lactopéroxydase (la lactopéroxydase catalysant la peroxydation d'un substrat (par exemple : orthophénylènediamine) faisant passer celui-ci de l'état incolore à l'état brun foncé (élément C) ;
- de ce substrat (par exemple : orthophénylènediamine) subissant la peroxydation (élément D).

On dispose également de toxine cholérique de façon à faire les contrôles positifs (élément E).

La méthodologie de recherche est la suivante :

- a) les anticorps anticholériques (élément B) sont mis en solution dans un "tampon", dans la première rangée de cavités ;
- b) les dents du peigne sont introduites dans ces cavités et mises en contact avec cette solution pendant un temps défini et à une température définie, pour réaliser l'absorption ou l'adsorption, de préférence jusqu'à saturation, des anticorps sur la matière des dents du peigne ;
- c) le peigne est ensuite lavé de façon à retirer l'excès d'anticorps qui ne serait pas absorbé de façon assez solide; ceci est fait dans les deuxième, troisième et quatrième rangées de cavités contenant chacune un "tampon" et un détergent. Les mouvements limités qui peuvent être imprimés au peigne dans les conditions

- 11 -

sus-décrivées, sans que les dents ne viennent heurter les parois d'extrémité des cavités, facilitent le lavage.:

5 d) le peigne est ensuite introduit ou déposé dans la cinquième rangée de cavités ("cavités réactionnelles") dans lesquelles est introduit le liquide biologique à doser (élément A).

10 Une ou plusieurs cavités de cette rangée ont été remplies de solution comportant soit de la toxine cholérique (témoin positif : élément E), soit simplement du "tampon" (témoin négatif).

15 Les dents du peigne restent en contact avec ces solutions pendant un temps défini et à une température définie.

15 e) les dents du peigne sont ensuite lavées dans les sixième, septième et huitième rangées de cavités, comme indiqué dans le paragraphe c.

f) les dents passent dans la neuvième rangée de cavités (ou troisième rangée de "cavités réactionnelles") qui contient des anticorps anticholériques couplés à l'enzyme lactopéroxydase (élément C) dans une solution "tampon".

25 Les dents du peigne sont également laissées en contact avec cette solution pendant un temps défini et à une température définie.

25 g) on lave dans les dixième, onzième et douzième séries de cavités, comme indiqué dans le paragraphe c).

h) on arrive enfin à la dernière rangée de cavités (ou quatrième rangée de "cavités réactionnelles") dans laquelle se trouvent les substrats de l'enzyme lactopéroxydase (élément D).

35 Là où il y a présence de toxine cholérique (fixée sur les anticorps absorbés sur les dents correspondantes du peigne), les anticorps anticholériques couplés à la lactopéroxydase peuvent se fixer sur le substrat et la réaction colorée (brun foncé) peut s'effectuer.

Si le liquide biologique examiné ne contient pas de toxine cholérique, la réaction produisant la colo-

BUREAU

OMPI

WIPO

- 12 -

ration brun foncé ne peut pas avoir lieu, et le liquide de la cavité reste incolore.

Cet exemple montre la facilité avec laquelle il est possible d'effectuer des détections d'un ou plusieurs facteurs déterminés, par des opérations mettant en jeu un matériel extrêmement simple et des manipulations tout à fait réduites, qui peuvent être aussi bien manuelles que partiellement ou complètement automatisées.

La technique selon l'invention permet en outre de promouvoir des réactions chimiques ou immunologiques successives, dans des milieux différents, les protéines, telles qu'antigènes ou anticorps pouvant, après absorption ou adsorption sur les dents du peigne, passer successivement dans des cavités contenant des milieux différents, chaque fois appropriés à la nature de l'opération à réaliser. Grâce au transfert du facteur à détecter ou du réactif correspondant, ou des deux à la fois, d'une cavité à l'autre, par l'intermédiaire des dents du peigne, on peut éviter que les liquides de réaction successifs soient souillés les uns par les autres, surtout si l'on a recours à des étapes de lavage des dents du peigne, dans les conditions qui ont été indiquées dans l'exemple.

Bien entendu, la détection décrite plus haut n'est qu'un exemple et le spécialiste se rendra bien compte des variations multiples quant à la nature des dosages auxquels le système selon l'invention peut se prêter.

Par exemple, on pourra doser des anticorps contre un antigène X, par exemple en ayant recours dans une première étape à la fixation de cet antigène X sur les dents du peigne, puis dans une rangée ultérieure de cavités à la mise en contact du peigne retenant l'antigène X avec des anticorps portant un marqueur, telle que la lactopéroxydase, contre le type d'anticorps à mettre en évidence ou à doser.

BUREAU
OMPI
WIPO

- 13 -

Le système n'est évidemment pas limité à des dosages mettant en jeu des couplages entre antigènes et anticorps. Il peut être utilisé pour tout dosage impliquant la détection d'une protéine particulière, 5 telle qu'une enzyme, pour autant que soit disponible une molécule affine vis-à-vis de cette protéine ou enzyme, susceptible d'une rétention sélective sur les dents du peigne, à l'occasion par exemple de la mise en contact de celle-ci avec ladite molécule affine 10 dans une première rangée de cavités de la plaque.

La technique selon l'invention permet non seulement des détections qualitatives, mais également des dosages quantitatifs. Dans ce dernier cas, on fera par exemple appel à une réaction colorée susceptible d'être 15 faite soit visuellement, soit par spectrophotométrie avec lecture optique digitale ou imprimée. On peut naturellement avoir recours à toute autre technique classique aboutissant à la détection notamment d'une concentration en principe actif.

20 Dans les exemples qui précédent, on a considéré le cas de la détection ou du dosage d'un même principe actif dans une pluralité d'échantillons biologiques. Il va naturellement de soi, comme cela a déjà été indiqué plus haut, que l'on peut également envisager de réaliser 25 des dosages simultanés de facteurs distincts originaires de un ou plusieurs échantillons biologiques. Dans ce dernier cas, les réactifs destinés à être prélevés par les dents du peigne, devront être choisis en conséquence et disposés dans les premières cavités réactionnelles (ou autres cavités) également en conséquence. 30

Bien entendu, il peut être choisi d'inverser la nature des produits à absorber en premier sur les dents du peigne, lorsque cela paraît désirable, compte tenu du dosage particulier envisagé.

35 Dans ce qui précède, on a essentiellement décrit la combinaison d'une plaque avec un peigne. Il va naturellement de soi que l'on peut également envisager des systèmes associant plusieurs peignes à une plaque

BUREAU
OMPI
WIPO

- 14 -

ou vice versa.

Par exemple, on aura recours à plusieurs peignes, lorsqu'il s'agira d'introduire successivement au niveau d'une rangée déterminée de "cavités réactionnelles" plusieurs 5 réactifs distincts, respectivement extraits à partir de rangées antérieures distinctes de cavités, dans les conditions décrites en rapport avec le peigne unique susvisé.

Dans une variante particulièrement intéressante de 10 l'invention, les plaques-supports des cavités peuvent être également fournies préremplies avec différents réactifs propres à former des tampons ou des milieux réactionnels selon le cas, soit sous forme liquide, soit sous forme lyophilisée, les plaques étant alors généralement mises 15 à la disposition du public protégées par un couvercle ou par une pellicule adhérant sur les zones intermédiaires de la plaque, séparant les cavités les unes des autres. Ces plaques peuvent être livrées aux utilisateurs avec un ou plusieurs peignes, de sorte qu'ils n'auront plus qu'à 20 ajouter l'échantillon biologique (sang, sérum, urine, etc.), éventuellement dilué, dans celles des rangées propres à les recevoir et à compléter les autres cavités réactionnelles, soit avec de l'eau, soit avec une solution répondant aux conditions requises par la méthode de détection mise en 25 avant.

Dans une autre variante encore de l'invention, le ou les peignes sont livrés avec le réactif de détection préabsorbé ou préadsorbé sur leurs dents. Une telle disposition pourrait se révéler particulièrement avantageuse 30 dans le cas de la détection d'enzymes spécifiques aux- quelles correspondent des molécules affines; par exemple des inhibiteurs d'activation de ces enzymes, la molécule affine pouvant alors être retenue sur les dents du peigne dans des conditions semblables à celles prévalant dans 35 les cas de substrats de chromatographie d'affinité.

Comme il va de soi et comme il résulte d'ailleurs déjà de ce qui précède, l'invention ne se limite nulle-

- 15 -

ment à ceux de ses modes d'application et de réalisation qui ont été plus spécialement envisagés ; elle en embrasse au contraire toutes les variantes.

REVENDICATIONS

1. Système permettant des analyses et des détections simultanées d'un facteur, dans une pluralité d'échantillons biologiques, caractérisé par la combinaison,

d'une part, d'une plaque comprenant un ensemble de cavités (2a, 2b) réparties en plusieurs séries distinctes (S_1 , S_2 , S_3 , S_4) comportant respectivement des nombres égaux de cavités, et formant autant de rangées de tubes en correspondance mutuelle, ladite plaque étant formée d'un matériau ne présentant pas de capacité d'adsorption ou d'absorption, tant à l'égard du facteur à détecter que des réactifs nécessaires à sa détection et,

d'autre part, d'un peigne comprenant des dents (4) dont les écartements leur permettent d'être introduites simultanément dans les cavités (2a, 2b) de chacune des susdites rangées, ou d'en être retirées simultanément, les dents dudit peigne étant elles-mêmes formées d'un matériau retenant ou apte à retenir, notamment par absorption ou adsorption soit le facteur, soit le réactif de détection dudit facteur.

2. Système selon la revendication 1, caractérisé en ce que la plaque est formée d'une matière plastique ou analogue absorbant ou n'absorbant pas les protéines et que les dents du peigne sont formées d'une matière plastique ou analogue adsorbant ou n'absorbant pas les protéines.

3. Système selon la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisé en ce que les cavités ou groupes consécutifs de premières rangées (2a) présentant des sections de dimensions réduites alternent avec des secondes rangées ou groupes consécutifs de secondes rangées (2b) dont les cavités présentent des sections plus allongées, notamment dans les directions des séries auxquelles elles appartiennent, ces sections plus allongées autorisant des déplacements relatifs limités dans les mêmes directions des dents du peigne, lorsque celles-ci ont été introduites dans les cavités correspondantes d'une même seconde rangée.

4. Système selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que la plaque est pourvue de moyens de gu-

dage (6a, 6b) coagissant avec des organes guidés (10₁, 10_b) portés par le peigne, pour assurer la mise en place correcte du peigne vis-à-vis de chaque rangée de cavités, à l'occasion des mouvements d'introduction des dents du peigne dans les cavités d'une même rangée et de leurs mouvements de retrait hors des cavités de celle-ci.

5. Système selon les revendications 3 et 4 prises ensemble, caractérisé en ce que les moyens de guidage portés par la plaque sont constitués de deux types d'encoches (6a, 6b) formées dans les côtés latéraux de la plaque, de part et d'autre desdites séries, ces moyens de guidage étant en correspondance avec les susdites première et seconde rangées, et en ce que les organes guidés (6b₁, 6b₂) portés par le peigne sont constitués de tiges ou analogues susceptibles de s'engager dans lesdites encoches, les encoches du premier type en correspondance avec lesdites premières rangées ayant avantageusement une section sensiblement complémentaire de celle desdites tiges, de sorte que l'engagement desdites tiges dans des encoches du premier type, à l'occasion de l'introduction des dents du peigne dans les cavités de l'une des dites premières rangées assurent le guidage desdites dents dans une direction bien déterminée, les encoches en correspondance avec les secondes rangées présentant une largeur plus grande et des bords (6b₁, 6b₂) définissant des butées coagissant avec lesdites tiges pour limiter les déplacements relatifs limités alors autorisés des dents du peigne, lorsque celles-ci sont ou ont été introduites dans les cavités de l'une des secondes rangées correspondantes de la plaque.

6. Système selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que les dents du peigne présentant à leur extrémité une partie (12) renflée ou de section plus importante que la zone intermédiaire (4) desdites dents entre ladite extrémité et la partie support (16) du peigne portant lesdites dents.

7. Système selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que certaines des cavités de la plaque contiennent par avance les réactifs nécessaires à la réalisation du

- 18 -

dosage extemporané par l'utilisateur.

8. Système selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'un ou plusieurs réactifs nécessaires à la détection d'un ou plusieurs facteurs sont préfixés sur les dents du peigne.

1/1

FIG. 1.

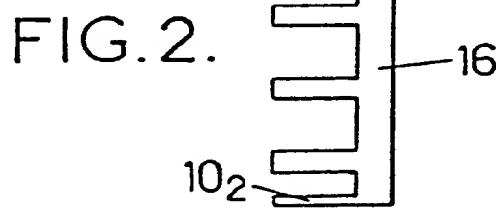
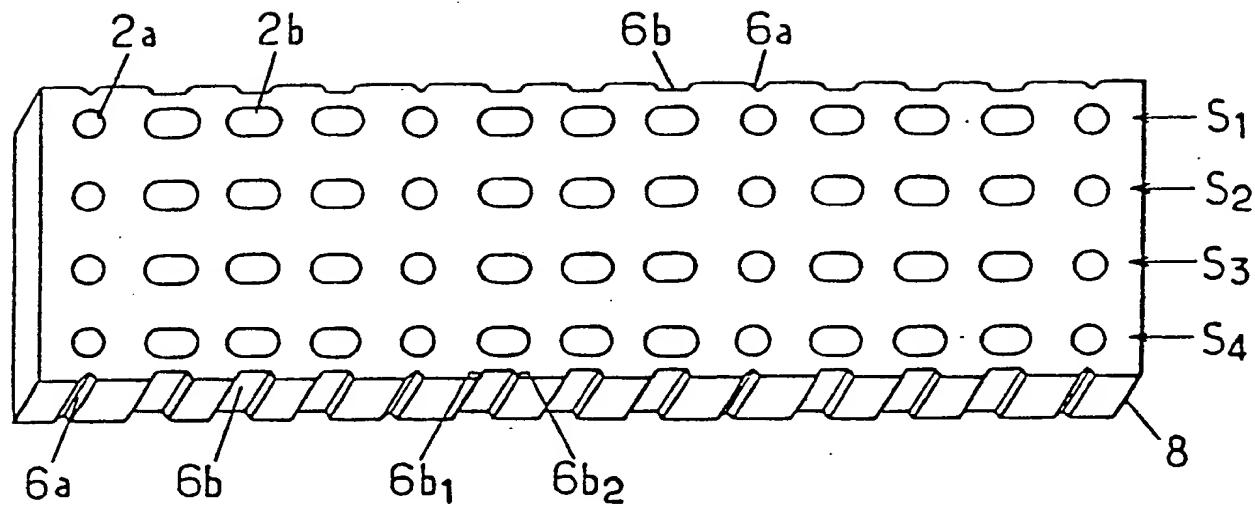


FIG. 2.

FIG. 3a.

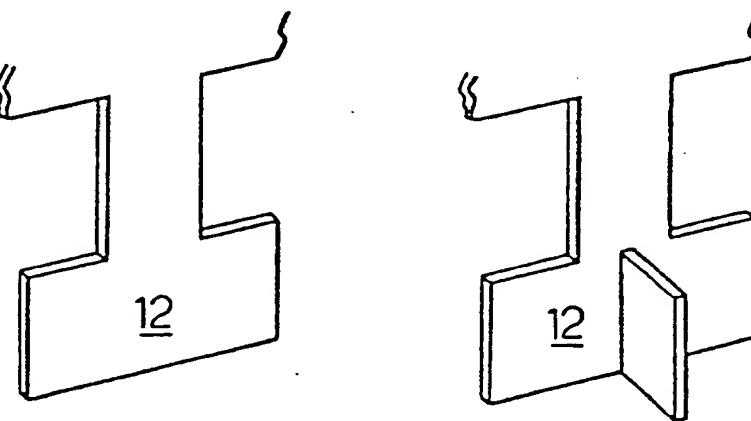
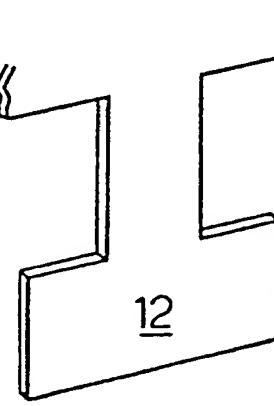
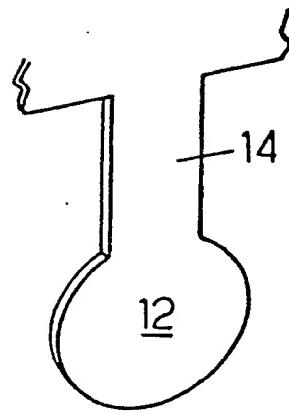


FIG. 3c.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale N° PCT/CH 83/00046

I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) ³

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

CIB. ³ : G 01 N 33/48; G 01 N 33/54

II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTÉ

Documentation minimale consultée ⁴

Système de classification	Symboles de classification
CIB. ³ :	G 01 N; C 12 Q

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté ⁵

III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS ¹⁴

Catégorie ⁶	Identification des documents cités, ¹⁵ avec indication, si nécessaire, des passages pertinents ¹⁷	N° des revendications visées ¹⁶
X	EP, A, 0042755 (UNILEVER NV) 30 décembre 1981 voir page 6, ligne 29 - page 9, ligne 21; page 10, ligne 19 - page 13, ligne 29; figures 1-3 --	1,2,4-8
Y	EP, A, 0024174 (VENTREX LABORATORIES INC) 25 février 1981 voir page 12, ligne 15 - page 17, ligne 13; revendications 1-10; figures 1 et 2 --	1,2,6-8
Y	US, A, 4225575 (R.N. PIASIO et al.) 30 septembre 1980 voir colonne 13, ligne 23 - colonne 15, ligne 36; revendications 1 et 8-40; figures 1-6 --	1,2,6-8
A	US, A, 4197287 (R.N. PIASIO) 8 avril 1980 --	./.

* Catégories spéciales de documents cités: ¹⁵

- « A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- « E » document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- « L » document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- « O » document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- « P » document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

« T » document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

« X » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive

« Y » document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.

« & » document qui fait partie de la même famille de brevets

IV. CERTIFICATION

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée ²

12 juillet 1983

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale ¹

29 JUL 1983

Administration chargée de la recherche internationale ¹
OFFICE EUROPEEN DES BREVETS

Signature du fonctionnaire autorisé ¹⁰

III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS¹⁴

(SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUÉS SUR LA
DEUXIÈME FEUILLE)

Catégorie ¹⁵	Identification des documents cités ¹⁶ avec indication, si nécessaire des passages pertinents ¹⁷	N° des revendications visées ¹⁸
A	US, A, 4111754 (H. PARK) 5 septembre 1978 -----	

ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE RELATIF

A LA DEMANDE INTERNATIONALE NO. PCT/CH 83/00046 (SA 4997)

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche international visé ci-dessus. Lesdits membres sont ceux contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 26/07/83

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevets	Date de publication
EP-A- 0042755	30/12/81	WO-A- 8200058 GB-A- 2107053 EP-A- 0044219 WO-A- 8200364	07/01/82 20/04/83 20/01/82 04/02/82
EP-A- 0024174	25/02/81	JP-A- 56055858 US-A- 4305924 AU-A- 6115180 CA-A- 1141660	16/05/81 15/12/81 12/02/81 22/02/83
US-A- 4225575	30/09/80	FR-A- 2394088 DE-A- 2824742 JP-A- 54063796 AU-A- 3692778 GB-A- 1584129 CA-A- 1109791 AU-B- 521002	05/01/79 15/02/79 22/05/79 13/12/79 04/02/81 29/09/81 11/03/82
US-A- 4197287	08/04/80	BE-A- 868016 FR-A- 2394088 DE-A- 2824742 JP-A- 54063796 AU-A- 3692778 GB-A- 1584129 CA-A- 1109791 AU-B- 521002	02/10/78 05/01/79 15/02/79 22/05/79 13/12/79 04/02/81 29/09/81 11/03/82
US-A- 4111754	05/09/78	CA-A- 1111761	03/11/81

Pour tout renseignement concernant cette annexe :

Voir l'Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No. 12/82

ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT ON

INTERNATIONAL APPLICATION NO.

PCT/CH 83/00046 (SA 4997)

This Annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 26/07/83

The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP-A- 0042755	30/12/81	WO-A- 8200058 GB-A- 2107053 EP-A- 0044219 WO-A- 8200364	07/01/82 20/04/83 20/01/82 04/02/82
EP-A- 0024174	25/02/81	JP-A- 56055858 US-A- 4305924 AU-A- 6115180 CA-A- 1141660	16/05/81 15/12/81 12/02/81 22/02/83
US-A- 4225575	30/09/80	FR-A- 2394088 DE-A- 2824742 JP-A- 54063796 AU-A- 3692778 GB-A- 1584129 CA-A- 1109791 AU-B- 521002	05/01/79 15/02/79 22/05/79 13/12/79 04/02/81 29/09/81 11/03/82
US-A- 4197287	08/04/80	BE-A- 868016 FR-A- 2394088 DE-A- 2824742 JP-A- 54063796 AU-A- 3692778 GB-A- 1584129 CA-A- 1109791 AU-B- 521002	02/10/78 05/01/79 15/02/79 22/05/79 13/12/79 04/02/81 29/09/81 11/03/82
US-A- 4111754	05/09/78	CA-A- 1111761	03/11/81

For more details about this annex :
see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/CH 83/00046

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) ³

According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC

Int.Cl.³ : G 01 N 33/48; G 01 N 33/54

II. FIELDS SEARCHED

Minimum Documentation Searched ⁴

Classification System	Classification Symbols
-----------------------	------------------------

Int.Cl.³ : G 01 N; C 12 Q

Documentation Searched other than Minimum Documentation
to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁵

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ¹⁴

Category ⁶	Citation of Document, ¹⁶ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹⁷	Relevant to Claim No. ¹⁸
X	EP, A, 0042755 (UNILEVER NV) 30 December 1981, see page 6, line 29 - page 9, line 21; page 10, line 19 - page 13, line 29 ; figures 1-3	1,2,4-8
Y	EP, A, 0024174 (VENTREX LABORATORIES INC) 25 February 1981, see page 12, line 15 - page 17, line 13 ; claims 1-10; figures 1 and 2	1,2,6-8
Y	US, A, 4225575 (R.N. PIASIO et al.) 30 September 1980, see column 13, line 23 - column 15, line 36; claims 1 and 8-40; figures 1-6	1,2,6-8
A	US, A, 4197287 (R.N. PIASIO) 08 April 1980	
A	US, A, 4111754 (H.PARK) 05 September 1978	

* Special categories of cited documents: ¹⁵

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

IV. CERTIFICATION

Date of the Actual Completion of the International Search ²

12 July 1983 (12.07.83)

Date of Mailing of this International Search Report ²

29 July 1983 (29.07.83)

International Searching Authority ¹

European Patent Office

Signature of Authorized Officer ²⁰